CREATININA

MÉTODO:
Colorimétrico (Picrato alcalino – Jaffé).

FINALIDADE:
Kit de reagentes diagnóstico para determinação quantitativa de creatinina no soro, plasma ou urina em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
No metabolismo muscular, a creatinina é sintetizada endogenamente a partir de creatina ou fosfocreatina. Em condições normais da função renal, a creatinina é excretada pela filtração glomerular. A determinação de creatinina é utilizada para diagnóstico e acompanhamento de doenças renais agudas e crônicas, assim como para o monitoramento da diálise renal. A concentração urinária de creatinina pode ser usada como valor de referência na excreção de albumina e α-amilase.

FUNDAMENTO:
Essa é uma modificação do método criado por Jaffé, em que a creatinina em meio alcalino forma um complexo alaranjado com o picrato. A intensidade da cor é proporcional à concentração de creatinina presente na amostra.
Ensaios com índice de correção de branco minimizam interferência pela bilirrubina. Soro e plasma que contenham proteínas podem reagir não-especificamente no método de Jaffé, desse modo, os resultados devem ter redução de 0,3 mg/dL (25 µmol/L) para valores mais acurados. Essa correção não necessita ser aplicada em urina, pois essa não possui proteínas não-específicas.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C.

COMPOSIÇÃO:

R1:		
Tampão Tris, pH 7,2	100	
Hidróxido de Sódio	≥250	
Surfactantes	<5,0	
R2:		
Ácido Pícrico	≥25	mmol/L

MODO DE USO:
Os reagentes estão prontos para uso e não dependem de preparo.

Opcionalmente, os reagentes podem ser utilizados como Reagente de Trabalho. Sendo que, nesse caso, a proporção da mistura é de 4 partes de Reagente 1 com 1 parte do Reagente 2. Homogeneizar antes do uso.

ESTABILIDADE:
R1 e R2 são estáveis até a data de validade impressa no rótulo se mantidos fechados de 2 a 8 °C. O Reagente de trabalho é estável por 7 dias entre 2 e 8 °C.
Não congelar!

Estabilidade *on board*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 19 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:

- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

Frequência de Calibração
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:

- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 07 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra.

Nota: A periodicidade da calibração pode ser redefinida pelo laboratório, desde que fundamentada em evidências documentadas que comprovem a manutenção do desempenho analítico dentro dos limites especificados.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis
- Os reagentes não necessitam ser tratados como amostras contaminantes.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Segurança (FDS).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro ou plasma (EDTA, heparina) livres de hemólise e urina. Não usar amostras hemolisadas de neonatos e lipêmicas!

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
A estabilidade da creatinina em soro ou plasma (EDTA, heparina) é de 7 dias entre 2 e 8 °C e em urina é estável por 4 dias entre 2 e 8 °C.
Descongelar as amostras apenas uma vez e descartar amostras contaminadas!

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Bilirrubina	10 mg/dL
Hemoglobina	500 mg/dL
Triglicérides	2000 mg/dL

Na literatura é descrito que algumas substâncias podem ocasionar a interferência no método Jaffé (picrato alcalino), tais como: ácido ascórbico (10 mmol/L) e cefalosporina (1 g/L).[14]

Para mais informações sobre substâncias interferentes, consulte Young para uma compilação das interferências relatadas com este teste.[6]

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Solução NaCl 9,0 g/L
- Banho-maria a 37 °C
- Controles e calibrador

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (±0,5 °C) durante a execução do teste.

Preparo da amostra de urina:
1- Medir o volume urinário em mL
2- Diluir a urina na proporção 1:25 (100 µL de urina + 2400 µL de água deionizada)
3- Multiplicar o resultado por 25 (fator de diluição)

B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda (λ): 505 nm (500 a 520 nm)
Temperatura: 37 °C
Tipo de reação: Tempo fixo crescente
Calibração: Linear de 2 pontos, contra reagente branco

C- Esquema de pipetagem:
1- Em três tubos ou cubetas marcados como Branco, Padrão e Amostra, proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	Tubos ou cubetas		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
R1	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Água	50 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	50 µL	---
Amostra	---	---	50 µL
Homogeneizar bem e incubar por 1 minuto a 37 °C, então adicionar:			
R2	250 µL	250 µL	250 µL

2- Homogeneizar bem, incubar por 1 minuto a 37 °C
3- Ler a absorbância 1 do Calibrador/Padrão e da Amostra contra o Branco (ΔAbs1) a 505 nm (500 a 520 nm)
4- Incubar por 2 minutos e ler absorbância 2 do Calibrador/Padrão e da Amostra contra o Branco (ΔAbs2), respeitando o mesmo comprimento de onda utilizado na absorbância inicial

D-Cálculo com padrão:
ΔAbs = ΔAbs1 – ΔAbs2

$$\text{Creatinina (mg/dL)} = \frac{\Delta Abs_{\text{Amostra}}}{\Delta Abs_{\text{Padrão}}} \times \text{Concentração do Calibrador/Padrão}$$

Exemplo:
$\Delta Abs_{\text{Amostra}}$: 0,106
$\Delta Abs_{\text{Padrão}}$: 0,264
Concentração do Padrão: 2,5 mg/dL

$$\text{Creatinina (mg/dL)} = \frac{0,106}{0,264} \times 2,5 \text{ mg/dL}$$

Creatinina (mg/dL) = **1,0 mg/dL**

E-Cálculo com fator:
Pela Lei de Lambert-Beer, o fator de calibração pode ser aplicado:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do Padrão}}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{Creatinina (mg/dL)} = \Delta Abs_{\text{Amostra}} \times \text{Fator de calibração}$$

Exemplo:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{2,5 \text{ mg/dL}}{0,264}$$

Fator de calibração = 9,47
Creatinina (mg/dL) = 0,106 × 9,47 Creatinina (mg/dL) = **1,0 mg/dL**

F-Cálculo para aplicação do índice de correção:
Creatinina corrigida (mg/dL) = Creatinina não corrigida (mg/dL) – 0,3 mg/dL

CREATININA

O índice de correção não deve ser aplicado em resultados obtidos a partir de amostras de urina.

G-Cálculo para urina de 24 horas:

$$\text{Creatinina (mg/24 h)} = \frac{\text{Creatinina urinária (mg/dL)} \square \text{ Volume urinário (ml/24 h)}}{100}$$

H-Cálculo para a depuração de Creatinina:

$$\text{Depuração de creatinina (mL/min)} = (140 - \text{Idade}) \times \frac{\text{Peso (kg)}}{72 \times \text{Creatinina sérica (mg/dL)}}$$

Para mulheres, multiplicar o resultado por 0,85

I-Cálculo para depuração da Creatinina endógena:

$$\text{Depuração de creatinina (mL/min)} = \frac{\text{Creatinina urina (mg/dL)}}{\text{Creatinina sérica (mg/dL)}} \times \frac{\text{Volume urina 24 h (mL)}}{1440}$$

Correção da depuração para a superfície corporal

$$\text{Depuração de creatinina corrigida (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = \frac{\text{Depuração (mL/min) x 1,73}}{\text{Superfície corporal (m}^2\text{)}}$$

$$\text{Superfície corporal} = \text{Peso}^{0,425}\text{ (kg)} \times \text{Altura}^{0,725}\text{ (cm)} \times 0,007184$$

J-Cálculo para Ritmo de Filtração Glomerular (RFG):

$$\text{RFG (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 1^{-0,203}$$

Mulheres = RFG x 0,742
Negros = RFG x 1,21

VALORES DE REFERÊNCIA:

Soro e plasma		
Recém-nascido	0,31 – 0,92 mg/dL	(27,4 – 81,3 µmol/L)
2 semanas – 1 ano	0,16 – 0,39 mg/dL	(14,1 – 34,5 µmol/L)
1 – 3 anos	0,17 – 0,35 mg/dL	(15,0 – 30,9 µmol/L)
3 – 5 anos	0,26 – 0,42 mg/dL	(23,0 – 37,1 µmol/L)
5 – 7 anos	0,29 – 0,48 mg/dL	(25,6 – 42,4 µmol/L)
7 – 9 anos	0,34 – 0,55 mg/dL	(30,1 – 48,6 µmol/L)
9 – 11 anos	0,32 – 0,64 mg/dL	(28,3 – 56,6 µmol/L)
11 – 13 anos	0,42 – 0,71 mg/dL	(37,1 – 62,8 µmol/L)
13 – 15 anos	0,46 – 0,81 mg/dL	(40,7 – 71,6 µmol/L)
Adulto (homem >18 anos)	0,70 – 1,20 mg/dL	(61,9 – 106,1 µmol/L)
Adulto (mulher >18 anos)	0,53 – 1,00 mg/dL	(46,9 – 88,4 µmol/L)
Urina		
Adulto (homem >18 anos)	39 – 259 mg/dL	(3.450 – 22.900 µmol/L)
Adulto (mulher >18 anos)	28 – 217 mg/dL	(2.470 – 19.200 µmol/L)
Urina 24 h		
Adulto (homem >18 anos)	800 – 2.000 mg/24 h	(70.720 – 176.800 mmol/24 h)
Adulto (mulher >18 anos)	600 – 1.800 mg/24 h	(53.040 – 159.120 mmol/24 h)

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.
Conversão unitária: 1 mg/dL = 88,4 µmol/L.

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:
Para amostras de soro/plasma: A reação é linear até a concentração de 20,0 mg/dL (1,768 µmol/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

Para amostras de urina: A reação é linear até a concentração de 505 mg/dL. Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com água qualidade reagente e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
Para amostras de soro/plasma: O limite inferior de detecção é 0,10 mg/dL (8,84 µmol/L).

Para amostras de urina: O limite inferior de detecção é de 2,7 mg/dL (238,73 umol/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO *n = 25* Amostras de Soro/Plasma	Média (mg/dL)	Desvio padrão (mg/dL)	CV%
Amostra 1	0,6	0,024	4,07
Amostra 2	1,6	0,046	2,85
Amostra 3	6,1	0,108	1,79

INTRAENSAIO *n = 25* Amostras de Urina	Média (mg/dL)	Desvio padrão (mg/dL)	CV%
Amostra 1	29,20	0,41	1,42%
Amostra 2	80,64	0,47	0,59%
Amostra 3	229,92	1,03	0,45%

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas durante 5 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 25* Amostras de Soro/Plasma	Média (mg/dL)	Desvio padrão (mg/dL)	CV%
Amostra 1	0,6	0,021	3,63
Amostra 2	1,6	0,049	3,05
Amostra 3	6,0	0,101	1,70

INTRAENSAIO *n = 25* Amostras de Urina	Média (mg/dL)	Desvio padrão (mg/dL)	CV%
Amostra 1	29,63	0,51	1,72
Amostra 2	81,82	1,37	1,67
Amostra 3	230,39	1,03	0,45

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Para amostras de soro/plasma: foram realizados testes com 100 amostras comparando-se o reagente CREATININA (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em: $y = 1,006x + 0,019$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,996.

Para amostras de urina: foram realizados testes com 72 amostras comparando-se o reagente CREATININA (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em: $y = 1,003x + 2,453$ e coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,996.

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Multicalibrador Universal Bioquímica Clínica
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

A absorção de CO_2 atmosférico pelo frasco de reagente R1 aberto leva a uma estabilidade de calibração prejudicada. O uso de adaptadores que reduzem a captação de CO_2 pelos reagentes é indicado.

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	VOLUME	CONTEUDO R1	CONTEUDO R2
CREATININA (Universal)	VYT010307186EN	150 mL	4 x 30 mL	2 x 15 mL
	VYT010308652EN	500 mL	4 x 100 mL	1 x 100 mL
CREATININA (BM SERIES I)	VYT010307371EN	200 mL	4 x 40 mL	4 x 10 mL
CREATININA (BM SERIES III)	VYT010307385EN	375 mL	5 x 60 mL	5 x 15 mL

ANVISA: 81692610178

BIBLIOGRAFIA:

1. Burtis CA, Bruns DE. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 7th Ed. Philadelphia: Elsevier (Saunders), 2015.
2. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
3. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ;Medical Economics Books, 1987.
4. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
5. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
6. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997.
7. Kroll MH, Elin RJ. Clinical Chemistry, 40(11):1996–2005, 1994.
8. Allegaert et al. J. Matern.-Fetal Neonatal Med. 25:9, 1678-1681, 2012.
9. Ceriotti, F. et al. Clinical Chemistry, 2008.
10. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 18, 1158–1176, 2017.
11. Kenny D et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:585, 1999.
12. Wong ECC et al. Pediatric Reference Intervals, 8th Ed. San Diego, CA: AACC Press, 2021.
13. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006.
14. Weber JA, van Zanten AP. Interferences in current methods for measurements of creatinine. Clin Chem. 1991 May;37(5):695-700. PMID: 2032322.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE – SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste kit, entrar em contato com:
ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:

Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:

- Data de Fabricação
- Data de Validade
- Limite de Temperatura
- REF — Código do Produto
- Consultar Instruções de Uso
- LOT — Número do Lote
- IVD — Produto para Diagnóstico In Vitro